

Diagnostische Wertigkeit des Nachweises von Antikörpern gegen *Candida*-Keimschlauchantigene bei einer Patientin mit hepatolienaler Candidose

Diagnostic value of antibody detection against *Candida* germ tube antigens in a patient with hepatosplenic candidosis

G. G. Wulf,¹ I. Conradi¹ und R. Rüchel²

¹Abteilung Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Göttingen, Göttingen und ²Abteilung Bakteriologie, Schwerpunkt Mykologie, Hygiene Institut der Universität, Kreuzbergring, Göttingen, Deutschland

Zusammenfassung

Bei einer 53jährigen Patientin mit akuter myeloischer Leukämie wurde bei Fieber in der späten Aplasie nach Chemotherapie die Diagnose einer invasiven Mykose mit charakteristischen Infiltrationen in der Leber und Milz gestellt. Zur serologischen Erkennung einer Candidose in der Frühphase der Infektion wurden zwei Nachweismethoden von Antikörpern gegen *Candida*-Antigene verglichen. Der ELISA-gestützte Nachweis von IgM und IgG Antikörpern gegen ein Gemisch von *Candida*-Antigenen (ESR 117G und 117M, Virion-Serion, Würzburg, Deutschland) zeigte die invasive Candidose deutlich früher (22 Tage) an als der Nachweis mittels Immunfluoreszenzdetektion von IgG Antikörpern gegen *Candida*-Keimschlauchantigene (Vircell, Granada, Spanien). Im Fall der Patientin war die Detektion einer humoralen Immunantwort gegen *Candida*-Keimschlauchantigene von geringer diagnostischer Bedeutung.

Summary

In the case of a 53-year-old woman with acute myeloid leukaemia and fever in late aplasia after chemotherapy, invasive mycosis with characteristic involvement of liver and spleen was diagnosed. For the serological identification of *Candida* in the early phase of the infection, methods for the detection of antibodies against *Candida* antigens were compared. By ELISA-based detection of IgM and IgG antibodies against a mixture of *Candida* antigens (ESR 117G and 117M, Virion-Serion, Würzburg, Germany) evidence for invasive candidosis was obtained significantly earlier (22 days) when compared with the immunofluorescence detection of IgG antibodies against *Candida albicans* germ tube antigens (Vircell, Granada, Spain). In the case of this patient, the detection of a humoral response against *Candida* germ tube antigens was of little diagnostic value.

Schlüsselwörter: Candidose, hepatolienale Infektion, Mykoserologie.

Key words: Candidosis, hepatosplenic infection, mycoserology.

Korrespondenz zu: Dr Gerald G. Wulf, Abteilung Hämatologie und Onkologie, Georg-August-Universität Göttingen, Robert-Koch-Str. 40, D-37099 Göttingen, Germany. Tel.: 0551-39-12881. Fax: 0551-39-2914. E-mail: gwulf@med.uni-goettingen.de

Angenommen zur Publikation: 6 Februar 2004

Einleitung

Chronische invasive Mykosen durch *Candida* stellen bei immunsupprimierten Patienten ein klinisches Problem dar, da bei potentiell lebensbedrohlichem Schweregrad der Erkrankung ein kultureller oder histologischer

Direktnachweis der Mykose nur selten gelingt bzw. aufgrund möglicher Komplikationen nicht durchführbar ist.¹ Neben der bildgebenden Diagnostik haben daher serologische Testverfahren, die eine humorale Immunreaktion des Patienten gegen Pilzantigene nachweisen, einen hohen Stellenwert durch Sicherung der Diagnose, um eine zügige Therapieeinleitung zu gewährleisten. Testverfahren für Antikörper gegen eine Reihe von *Candida*-Antigenen wurden beschrieben, von denen der Nachweis einer Immunantwort gegen Mannoproteine breite Anwendung gefunden hat.² Um in Abgrenzung zu einer Immunreaktion gegen eine alleinige Kolonisation mit *Candida* die Spezifität der serologischen Tests für invasive Formen der *Candida*-Mykosen zu erhöhen, wurden Testverfahren zum Nachweis von Antikörpern gegen *Candida albicans* Keimschlauchantigene (*Candida albicans* germ tubes, CAGT) entwickelt und in klinischen Studien validiert.³ Im vorliegenden Fall einer Patientin mit den charakteristischen klinischen und bildgebenden Befunden einer hepatolienalen Candidose wurden zwei kommerziell verfügbare Tests zur Detektion von Antikörpern gegen *Candida*-Mannoproteinantigene und *Candida*-Keimschlauchantigene im zeitlichen Verlauf verglichen.

Fallbericht

Bei der 53jährigen Patientin ohne wesentliche Vorerkrankungen wurde bei der Abklärung von Schmerzen im rechten Oberschenkel und Leukozytose die Erstdiagnose einer akuten myeloischen Leukämie (AML) der Klasse M1 mit normalem Karyotyp sowie eines thrombotischen Verschluss der Arteria femoralis superficialis rechts gestellt. Es erfolgte eine komplikationsfreie Embolektomie des am ehesten leukostatischen Thrombus und anschließend eine Induktionstherapie mit Idarubicin, Ara-C und Etoposid (ICE). Unter der Chemotherapie wurde eine orale antimykotische Prophylaxe mit Amphotericin B, aber keine systemische Antimykose gegeben. An Tag 25 nach Beginn der Chemotherapie wurde eine komplette Remission der AML festgestellt. An Tag 4 nach Beginn der Chemotherapie kam es zu einer Fieberepisode ohne Erreger- oder Fokusnachweis und schnellem Ansprechen auf eine empirische Antibiose mit Teicoplanin und Meropenem, die nach Entfieberung bis zum Tag 14 fortgesetzt wurde. Ab Tag 21 kam es erneut zu Fieber, es wurde eine empirische Antibiose mit Teicoplanin und Imipenem, sowie bei ausbleibender Entfieberung ab Tag 23 zusätzlich eine empirische Antimykose mit Voriconazol (6 mg kg^{-1} Körpergewicht (KG)) gegeben. In der serologischen Diagnostik der *Candida*-Infektion zeigte der im

Tabelle 1 Verlauf der serologischen Testergebnisse mit *Candida*-Mischantigenen (Virion-Serion) und *Candida*-Keimschlauchantigenen (Vircell)

Tag	Mischantigenachweis			Keimschlauchantigenachweis	
	IgM [E]	IgG [E]	Beurteilung	IgG	Beurteilung
-4	2	9	negativ	1 : <40	negativ
30	>999	144	positiv	1 : <40	negativ
52	>999	380	positiv	1 : 160	positiv

Während im ELISA auf Antikörper gegen gemischte Mannoproteine ab Tag 30 eine positive Reaktion für IgM und IgG zu erkennen war, reagierte der Immunfluoreszenz-Test auf IgG gegen Keimschlauchantigene erst ab Tag 52 positiv.

ELISA-Verfahren ermittelte Nachweis von IgG und IgM gegen ein Gemisch von zytoplasmatischen und Zellwand-Antigenen von *C. albicans* (ESR 117G und 117M, Virion-Serion, Würzburg, Deutschland) eine deutlich frühere und höhere Positivität als der mittels Immunfluoreszenz geführte Nachweis von IgG-Immunglobulinen gegen *Candida*-Keimschlauchantigene (Vircell, Granada, Spanien; Tabelle 1, Abb. 1). Ein Test zur Detektion von *Candida*-Antigenen (CandTec) war durchgehend negativ; der Nachweis von *Candida* bzw. von Bakterien aus dem Blut gelang trotz wiederholter



Abb. 1 Immunfluoreszenz von IgG-Antikörpern gegen Keimschlauchantigene von *C. albicans*. Keimschläuche wurden zunächst mit dem Serum der Patientin, dann nach den Angaben des Herstellers mit einem Fluoreszein-markierten Sekundäntikörper mit Spezifität für humanes IgG versetzt. Positive, gelbe Fluoreszenzdarstellung der *Candida*-Keimschläuche. Die höchste Verdünnungsstufe mit noch vollständiger Darstellung der Keimschläuche wurde als Titer festgestellt.³ Hefezellen wurden zugesetzt, um irrelevante *Candida*-Antikörper zu adsorbieren. Ihre Gegenfärbung erfolgte mit Evans-Blau (rote Fluoreszenz). Anregung bei 488 nm. Objektiv 40x.

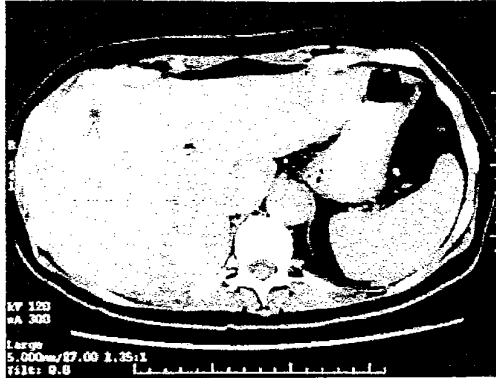


Abb. 2 Computertomographische Darstellung der hepatolienalen Candidose. In der computertomographischen Abbildung von Leber und Milz mit Kontrastmittel wurden an Tag 33 nach Beginn der Chemotherapie bzw. an Tag 12 der Fieberepisode multiple, ca. 1 cm messende hypodense Herde dargestellt.

Versuche ($n = 14$, jeweils aerob und anaerob) nicht. Aus den Überwachungskulturen wurde eine anale Besiedlung mit *Candida glabrata* nachgewiesen. Bildgebend waren ab Tag 33 sonographisch und in der Computertomographie multiple hypodense Herde in der Leber und Milz nachweisbar (Abb. 2). Bei ausbleibender Entfieberung und Anstieg der plasmatischen Leberwerte unter dieser Therapie erfolgte ab dem Tag 33 ein Therapieversuch mit Amphotericin B ($1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ KG}$), der aufgrund von Unverträglichkeitsreaktionen nicht fortgeführt wurde, und ab dem Tag 36 eine Therapie mit Caspofungin (70 mg an Tag 1, dann 50 mg täglich). Bei weiter bestehendem hohem Fieber und unverändert hohen Entzündungsparametern in der Laboranalyse nach 14 Tagen der Therapie mit Caspofungin erfolgte ab dem Tag 50 eine Therapie mit liposomalem Amphotericin B ($3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ KG}$). Unter dieser Therapie kam es innerhalb von 7 Tagen zur Entfieberung und zur verzögerten Rückbildung der Leberwerte und Entzündungsparameter. Die Therapie mit liposomalem Amphotericin B wurde 55 Tage fortgeführt, und dann umgestellt auf eine Sekundärprophylaxe mit Voriconazol, um unter dieser Prophylaxe die Chemotherapie der AML fortsetzen zu können.

Diskussion

Invasive Candidosen zählen mit einer Inzidenz von 2% bis 46% zu den häufigen Komplikationen im Verlauf der Erkrankung von Patienten mit hämatologischen Neoplasien.^{4, 5} Die chronische disseminierte Candidose mit

Befall von Leber und Milz stellt einen Sonderfall der invasiven Candidose dar, der insbesondere bei Patienten mit AML beobachtet wird.⁶ Wie in dem hier vorgestellten Fall ist bei der hepatolienalen Candidose der Versuch eines kulturellen Keimnachweises aus dem Blut typischerweise in der Mehrzahl der Fälle (70%) nicht erfolgreich, und ein bildgebendes Korrelat des Befalls von Leber und Milz durch die *Candida*-Herde wird erst einige Tage nach Entwicklung von Fieber und laborchemisch deutlichen Entzündungszeichen darstellbar.¹ Der empirische Beginn einer antimykotischen Therapie bei klinischem Verdacht stellt den Regelfall dar und führt auf Seiten des Kliniklers zur Frage nach einer serologischen Bestätigung der Diagnose. Ein wesentliches Problem in der serologischen Diagnostik von Candidosen ist die Unterscheidung der humoralen Immunität bei invasiven Candidosen und der Immunreaktion bei alleiniger Kolonisation des Patienten. Serologische Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Candida*-Antigene der Zellwand und des Zytoplasmas sind bei einfacher Bestimmung zu dieser Unterscheidung von geringer Spezifität.² Nachweisemethoden für Antikörper, die gegen Keimschlauchantigene von *Candida albicans* gerichtet sind, wurden mit der Hypothese entwickelt, dass Antikörperentwicklung gegen Keimschlauchantigene assoziiert sei mit der Invasivität der Candidose. In der Tat zeigten Studien mit dem hier angewandten Test (CAGT Immunfluoreszenz) bei Patienten mit histologisch oder kulturell gesicherter invasiver Candidose eine hohe Spezifität (87,5%) und Sensitivität (92,5%) in der Detektion der Candidose.³ Allerdings wurde in dieser Studie auch aufgezeigt, dass bei chemotherapeutisch behandelten Patienten mit hämatologischen Neoplasien die anti-CAGT Titer im Vergleich zu den Titern gegen *Candida*-Mischantigene nur niedrig gemessen wurden.³ Dies traf auch für den Fall der hier vorgestellten Patientin zu. Die Dynamik des Titerverlaufs von Antikörpern gegen *Candida*-Mischantigene, insbesondere der deutliche Anstieg des IgM, war diagnostisch deutlich früher aussagekräftig als der Nachweis von Antikörpern gegen CAGT. Durchaus unzuverlässig war in diesem Fall der serologische Nachweis von *Candida*-Antigenen; eine Erfahrung, die mit der Literatur übereinstimmt.⁷

Zusammenfassend war bei diesem Fall einer hepatolienalen Candidose im Vergleich zur Diagnostik mittels Antikörpernachweisen gegen *Candida*-Mischantigene unter Berücksichtigung des Titerverlaufs und der Bestimmung von IgM und IgG der Nachweis von IgG gegen *Candida*-Keimschlauchantigene von geringem zusätzlichem Wert. Der Nachweis von IgM derselben Spezifität erscheint jedoch aussichtsreich.

G. G. Wulf *et al.*

Literatur

- 1 Kontoyiannis DP, Luna MA, Samuels BI, Bodey GP. Hepatosplenic candidiasis. A manifestation of chronic disseminated candidiasis. *Inf Dis Clin North Am* 2000; **14**: 721–39.
- 2 Jones JM. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Microbiol Rev* 1990; **3**: 32–45.
- 3 Garcia-Ruiz J, Del Carmen Arilla M, Regulez P, Quindos G, Alvarez A, Ponton J. Detection of antibodies to *Candida albicans* gerin tubes for diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis in patients with hematological malignancies. *J Clin Microbiol* 1997; **35**: 3284–7.
- 4 Bodey G, Bultmann B, Duguid W *et al.* Fungal infections in cancer patients: an international autopsy survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; **11**: 99–109.
- 5 Blasquez R, Berenguer J, Sanchez-Carrillo C, Alvarez E, Bouza E. Fungal infections found during autopsies: a report from Spain. *Clin Inf Dis* 1995; **20**: 479–80.
- 6 Pagano L, Mele L, Fianchi L *et al.* Chronic disseminated candidiasis in patients with hematological malignancies: clinical features and outcomes of 29 episodes. *Haematologica* 2002; **87**: 535–41.
- 7 Girmenia C, Martino P, De Bernardis F, Boccanegra M, Cassone A. Lack of circulating mannoprotein antigen in patients with focal hepatosplenic candidiasis. *J Med Microbiol* 2004; **53**: 103–6.